

10.A) SPEKTROFOTOMETRIE – STANOVENÍ MOLÁRNÍHO ABSORPČNÍHO KOEFICIENTU

Spektrofotometrie je jednou z nejrozšířenějších analytických metod, při níž se měří množství světla pohlcené roztokem stanovované látky. Metoda je poměrně citlivá, umožňuje pracovat i s roztoky látek o koncentraci menší než 10^{-4} mol.dm⁻³. Množství světla pohlceného roztokem, jehož tloušťka vrstvy je d a koncentrace c , určuje Lambertův-Beerův zákon

$$I = I_0 \cdot \exp(-\alpha \cdot c \cdot d) \quad (10.1),$$

ve kterém I_0 je intenzita dopadajícího světla, I je prošlé množství světla roztokem a α je absorpční koeficient. Rovnici (10.1) je možno psát také ve tvaru

$$\log \frac{I}{I_0} = -\varepsilon \cdot c \cdot d \quad (10.2).$$

Konstanta ε se nazývá molární dekadický absorpční koeficient. Poměr I/I_0 , který může nabývat hodnot od 1 do 0, se nazývá propustnost (transparence) T . Záporný dekadický logaritmus propustnosti se nazývá absorbance A :

$$-\log I/I_0 = A = \varepsilon \cdot c \cdot d = -\log T \quad (10.3).$$

Hodnoty absorbance se pohybují v intervalu od 0 do ∞ , ovšem při požadavku dosažení vysoké přesnosti měření je optimální pracovat s roztoky, jejichž absorbance nepřekračuje hodnotu 1. Jestliže existuje v roztoku n absorbujících složek, pak je absorbance aditivní:

$$A = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i \cdot c_i \cdot d \quad (10.4).$$

Molární dekadický absorpční koeficient ε je při dané vlnové délce charakteristickou konstantou a nezávisí na koncentraci látky. Jeho hodnota vykazuje pro danou látku charakteristický tvar závislosti na vlnové délce.

V některých případech nemusí být Lambertův-Beerův zákon splněn a absorbance není lineární funkcí koncentrace. Proto před každým měřením, v němž se vychází z Lambertova-Beerova zákona, je nutné ověřit jeho platnost a sestavit kalibrační křivku závislosti absorbance na koncentraci.

Úkol: **Ověřte platnost Lambertova-Beerova zákona a vypočítejte molární absorpční koeficient pro tyto roztoky:**

1. Bromthymolová modř (BTM), pH=9, $\lambda_{\max} = 615 \text{ nm}$,
2. Methyloranž, $\lambda_{\max} = 465 \text{ nm}$,
3. Krystalová violet', $\lambda_{\max} = 590 \text{ nm}$.

Experimentální vybavení: Spektrofotometr, 1 cm skleněné kyvety, $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ roztok krystalové violeti, $2 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ roztok methyloranže, $1,2 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ roztok BTM v pufru o pH = 9, pufr o hodnotě pH = 9, pipety, odměrné baňky o obsahu 25 cm^3 .

Pracovní postup: Do odměrných baněk dáme postupně 0,5 až 5 cm^3 (po 0,5 ml) základního roztoku jednotlivých indikátorů a doplníme po značku destilovanou vodou (v případě BTM pufr o pH=9). Srovnávacím roztokem je destilovaná voda (u BTM opět pufr o pH=9). Absorbanci roztoku měříme v 1 cm skleněných kyvetách při vlnové délce λ_{\max} .

Vyhodnocení: Naměřené hodnoty absorbance pro jednotlivé koncentrace studovaných látek zapíšeme společně s příslušnou hodnotou koncentrace do tabulky (Tabulka 10-1). Provedeme lineární regresi A proti c, neboť předpokládáme její lineární závislost. Zjištěná směrnice je molární dekadický absorpční koeficient. Je-li k dispozici vhodný software, je vhodné statisticky otestovat posunutí v počátku; nemělo by být významně vzdálené od nuly. Pokud rezidua vykazují trend, příp. nedostatečně mění znaménko, je podezření na nesprávnost předpokladu lineární závislosti a tedy i platnosti Lambertova-Beerova zákona.

Tabulka 10-1 Absorbance vodného roztoku ... v závislosti na její koncentraci

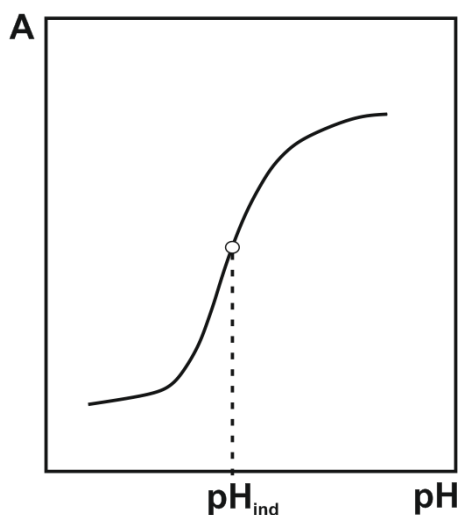
c (mol.dm⁻³)	
A	

10.B) SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ pK INDIKÁTORU

Acidobazické indikátory jsou vesměs organická barviva, která reagují změnou zbarvení na změnu koncentrace hydroxoniových iontů v roztoku.

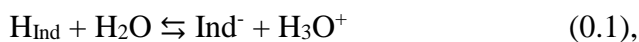
Definici acidobazických indikátorů podal Kolthoff. Acidobazické indikátory jsou slabé kyseliny nebo zásady, jejichž disociovaná forma má jiné zbarvení a strukturu než forma nedisociovaná.

Titrační křivka indikátoru je totožná s titrační křivkou ostatních kyselin a to znamená, že barevný přechod není dán bodem, ale celou oblastí pH. U "dobrých" indikátorů je tato oblast asi 1,5 jednotky pH.



Obr. 0-1 závislosti absorbance roztoku indikátoru HInd na pH

Pro indikátor HInd, který ve vodě disociuje podle zjednodušené rovnice



můžeme napsat termodynamickou disociační konstantu K_{HInd}

$$K_{\text{HInd}} = \frac{a_{\text{Ind}^-} \cdot a_{\text{H}_3\text{O}^+}}{a_{\text{HInd}}} \quad (0.2).$$

Protože $a = \gamma \cdot c$, platí:

$$K_{\text{HInd}} = \frac{\gamma_{\text{Ind}^-} \cdot \gamma_{\text{H}_3\text{O}^+}}{\gamma_{\text{HInd}}} \cdot \frac{c_{\text{Ind}^-} \cdot c_{\text{H}_3\text{O}^+}}{c_{\text{HInd}}} \quad (0.3).$$

Pro velmi zředěné roztoky je možno s velmi malou chybou pokládat aktivní koeficienty γ za jednotkové a termodynamickou disociační konstanty K_{HInd} lze ztotožnit s hodnotou zdánlivé (koncentrační) disociační konstanty K'_{HInd} . Rovnici (0.3) lze potom psát ve tvaru:

$$\text{p}K_{\text{HInd}} = \text{pH} - \log \frac{c_{\text{Ind}^-}}{c_{\text{HInd}}} \quad (0.4).$$

Protože platí, že součet koncentrací obou forem je konstantní $c_{\text{Ind}^-} + c_{\text{HInd}} = c_{\text{T}}$, z Lambertova-Beerova zákona a z rovnic (0.2), (0.4) vyplývá:

$$\text{p}K_{\text{HInd}} = \text{pH} - \log \frac{A - A_{\text{HInd}}}{A_{\text{Ind}^-} - A} \quad (0.5)$$

Závislost absorbance na pH je znázorněna na Obr. 0-1.

Úkol: Ze spektrofotometrických dat stanovte pK bromthymolové modře (BTM).

Experimentální vybavení: Spektrofotometr, $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ roztok BTM, odměrné baňky o obsahu 25 cm^3 , zásobní Brittonův-Robinsonův roztok, $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH, kádinky, pipety, zásobní lahve na pufrů o obsahu 100 cm^3 , pH-metr, skleněná a kalomelová elektroda.

Pracovní postup: Připravíme si sadu 100 cm^3 Brittonových-Robinsonových pufrů o pH 3 až 10. Základní Brittonův-Robinsonův roztok obsahuje $0,04 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ H_3PO_4 , $0,04 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ CH_3COOH a $0,04 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ H_3BO_3 . Vlastní pufrů k měření se získají tak, že 100 cm^3 tohoto roztoku smísíme s $x \text{ cm}^3$ $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH podle tabulky (Tabulka 0-1). pH takto připravených roztoků změříme na pH-metru. → už bude připraveno

Do odměrných baněk 25 cm^3 si připravíme 5 různě koncentrovaných roztoků BTM a doplníme po značku pufrém pH = 7,9. Stejně připravíme i srovnávací roztoky, jen místo BTM dáme destilovanou vodu. Pro všechny vzorky změříme absorbanci při 615 nm. Z těchto dat ověříme platnost Lambertova-Beerova zákona (úloha 10 na str. 1).

Dále do 25 cm^3 odměrných baněk odpipetujeme po 5 cm^3 zásobního roztoku BTM a doplníme po značku jednotlivými pufrů. Srovnávací roztoky připravíme stejně, pouze místo roztoku BTM dáme destilovanou vodu. Na spektrofotometru změříme absorbance při 615 nm. Zbytek roztoků použijeme ke změření pH roztoku a to tak, že srovnávacími roztoky opláchneme elektrody a u roztoků, které obsahují BTM, změříme pH.

Tabulka 0-1 Příprava Brittonových-Robinsonových pufrů

x cm³ 0,2M-NaOH	pH	x cm³ 0,2M-NaOH	pH
15,0	2,56	55,0	7,24
20,0	3,29	57,5	7,54
42,5	6,09	60,0	7,96
45,0	6,37	65,0	8,69
50,0	6,80	77,5	9,91

Vyhodnocení: Předpokládáme-li, že nepřesnost měření absorbance je zanedbatelná proti nepřesnosti, se kterou je zjištěno pH, stačí dosadit absorbanci pro každé pH (s výjimkou nejnižšího a nejvyššího) do vztahu (0.5) a vyčíslit pK'_{HInd} . Za A_{HInd} a A_{Ind} se dosadí právě absorbance při nejnižším a nejvyšším pH. Dále vypočítáme aritmetický průměr pK'_{HInd} a směrodatnou odchylku. Závislost A na pH znázorníme také graficky.